Aus dem Physiologischen Institut der
Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Karl-Julius Ullrich

Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus von Aldosteron an der Rattenniere: Der Einfluß von Aldosteron auf die Aktivität mitochondrialer und cytoplasmatischer Enzyme

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Rolf Kinne
aus Berlin

1968

Aus dem Physiologischen Institut der
Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Karl-Julius Ullrich

Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus von Aldosteron an der Rattenniere: Der Einfluß von Aldosteron auf die Aktivität mitochondrialer und cytoplasmatischer Enzyme

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Rolf Kinne
aus Berlin

Dekan:	Professor Dr. med. Hans Wolfgang Spier
Referent:	Professor Dr. med. Karl-Julius Ullrich
Korreferent:	Professor Dr. med. Max Schwab

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

Promoviert am : 7. 3. 68

UNIV. LEIDEN BIBL.

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

I n h a l t s v e r z e i c h n i s

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Material und Methoden	3
3.	Ergebnisse	5
4.	Diskussion	8
5.	Literaturverzeichnis	13
6.	Zusammenfassung	16

E i n l e i t u n g

Die Froschhaut und die Harnblase von Kröten sind wegen ihrer guten Zugänglichkeit als Modell für das Studium von Elementarprozessen wie Wasser- und Salztransport besonders geeignet. Auch deren Veränderung durch Hormone wurde an diesen Membranen untersucht. So steigert Aldosteron sowohl nach in vivo als auch in vitro Gabe den Natriumtransport der Krötenblase (6, 7).

Die dabei beobachtete Latenzzeit ließ vermuten, daß Aldosteron den Natriumtransport nicht unmittelbar steigert, sondern eine Folge von Reaktionen einleitet, deren Endresultat eine Steigerung des Natriumtransportes ist. Durch die Untersuchungen von EDELMAN wurde gezeigt, daß Aldosteron in der Zelle an spezifische Kernrezeptoren gebunden wird und eine vermehrte Inkorporation von H_3- Uridin in die wasserlösliche Fraktion der RNS bewirkt (18). Außerdem können Hemmstoffe der Proteinsynthese wie Actinomycin D und Puromycin die Wirkung von Aldosteron an der Krötenblase verhindern (9). Diese Befunde deuten darauf hin, daß während der Latenzzeit die de novo Synthese eines für den Transportprozeß notwendigen Proteins erfolgt.

Um die Funktion dieses Proteins zu charakterisieren, wurde die Wirkung von Substraten und Inhibitoren auf den durch Aldosteron gesteigerten Natriumtransport untersucht. Dabei zeigte es sich, daß Glukose, Pyruvat, Laktat, Oxalacetat, Acetoacetat und β- Hydroxybutyrat an der steroidbehandelten substratverarmten Krötenblase zu einer Steigerung des Natriumtransportes führen, während sie am steroidfreien System keine Wirkung haben. Oxythiamin, ein Hemmstoff der Pyruvat- Dehydrogenase, blockiert reversibel die Wirkung von Glukose, Pyruvat, Laktat und Oxalacetat, die Wirkung von β- Hydroxybutyrat und Acetoacetat bleibt unbeeinflußt (10, 11, 22, 23, 24, 25). Aus diesen Untersuchungen konnte man auf eine Abhängigkeit des durch Aldosteron gesteigerten Natriumtransportes vom Citronensäurecyclus schließen (8, 11).

Die Substratwirkung auf den Natriumtransport der steroidbehandelten Krötenblase kann indessen durch verschiedene Mechanismen erklärt werden. EDELMAN und Mitarbeiter vermuten, daß nach Aldosterongabe vermehrt Enzyme gebildet werden, die bei der Energiegewinnung aus Substraten limitierend sind, und daß ein erhöhtes Angebot von energiereichen Verbindungen die Steigerung des Natriumtransportes hervorruft (11). LEAF und Mitarbeiter glauben hingegen, daß der Eintritt des Natriums in die Zelle den Transport begrenzt. Aldosteron soll durch Induktion eines permeaseähnlichen Enzyms primär die Permeabilität der Zellmembran für Natrium erhöhen. Das vermehrt eingeströmte Natrium soll eine gesteigerte Tätigkeit der Natriumpumpe bewirken, die sekundär zu einer Steigerung des Stoffwechsels führt (24).

Nachdem bisher durch Zugabe von Substraten und Inhibitoren versucht worden war, den Wirkungsort von Aldosteron aufzuklären, versuchten wir einen direkteren Zugang zu diesem Problem durch Untersuchung der Enzymaktivitäten zu bekommen. Im Folgenden wird über Veränderungen der Enzymaktivitäten an der Rattenniere unter Aldosteronwirkung berichtet. Dieses Untersuchungsobjekt wurde deshalb gewählt, weil es höhere Enzymaktivitäten als die Krötenblase aufweist und außerdem von HIERHOLZER und Mitarbeitern gezeigt worden war, daß der Natriumtransport nicht nur im distalen sondern auch im proximalen Konvolut durch Aldosteron hochgradig beeinflusst wird.(13, 26). Es wird gezeigt, daß Aldosteron die Aktivität des condensing enzyme und in geringerem Grade die Aktivität der TPN- Isocitrat- Dehydrogenase und der Glutamat- Dehydrogenase beeinflusst.

M a t e r i a l und M e t h o d e n

1. Gewebegewinnung und Aufarbeitung

180 - 220 g schwere weibliche Albinoratten vom Stamm Wistar 2 wurden in leichter Äthernarkose durch Flankenschnitt beidseitig adrenalektomiert. Als Kontrollen dienten gleichschwere Tiere des gleichen Stammes. Beide Gruppen erhielten Altromin als Standarddiät, die adrenalektomierten Tiere an Stelle von Leitungswasser 0,9 % NaCl-Lösung zum Trinken. Am 7. Tag nach der Operation wurde durch einen Wasserversuch die Vollständigkeit der Adrenalektomie überprüft (13). Am 8.- 13. Tag nach Adrenalektomie wurden dann die Enzymaktivitäten der Nieren von Tieren mit entsprechend verzögerter Wasserausscheidung gemessen.

Die Tiere wurden durch Nackenschlag getötet, durch Dekapitation entblutet und die Nieren durch Flankenschnitt entfernt. Sie wurden sofort in ein eisgekühltes Becherglas placiert und in einen Kühlraum gebracht, wo bei etwa + 2°C die weitere Aufarbeitung erfolgte: Die von der Kapsel, dem Nierenbeckenbindegewebe und anhängendem Fettgewebe befreiten Nieren wurden auf Filterpapier abgetupft und mit einer Schere auf einem Uhrglas zerkleinert. Zur Mitochondrienisolierung wurden sie in einem Medium von 0,3 M Saccharose, 2 mM EDTA und 100 mM TRA- Puffer, das mit KOH auf pH 7,6 eingestellt war, mit dem Potter- Elvehjem Homogenisator homogenisiert. Das Homogenat wurde 10 min lang bei 400 x g, der Überstand 10 min lang bei 9000 x g zentrifugiert, das Sediment der zweiten Zentrifugation im Medium resuspendiert und nochmals 10 min bei 400 x g, der Überstand 10 min bei 9000 x g zentrifugiert. Anschließend wurde das Sediment in 2- 4 ml isotonem Phosphatpuffer mit pH 7,4 aufgenommen und im Ultra- Turrax homogenisiert. Zur Herstellung eines Homogenates der Gesamtniere wurden die Gewebsschnitzel in 2 ml isotonem Phosphatpuffer aufgenommen und im Ultra- Turrax homogenisiert. Dabei wurde mit isotonem Phosphatpuffer von pH 7,4 auf das Endvolumen von 8 ml aufgefüllt.

2. Messung von Enzymaktivitäten

Die Messung der Aktivität der TPN-Isocitrat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.42), Malat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.37), Glutamat-Dehydrogenase (EC 1.4.1.3), Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (EC 2.6.1.1), Glyceraldehydphosphat-Dehydrogenase (EC 1.2.1.12), Pyruvat-Kinase (EC 2.7.1.40), malic enzyme (EC 1.1.1.38) und Laktat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.27) erfolgte im einfachen und zusammengesetzten optischen Test mit Pyridinnucleotiden nach BÜCHER (4). Die Aktivität des condensing enzyme (EC 4.1.3.7) wurde nach der Methode von BERGMEYER bestimmt (1, 3). Zur Messung der DPN-Isocitrat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.41) und der β-Hydroxybutyrat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.30) wurden die Angaben von KADENBACH verwandt (16). Im manometrischen Test wurde die Aktivität der α-Glycerophosphat-Oxydase (EC 1.1.2.1) und der Succinat-Dehydrogenase (EC 1.3.99.1) bestimmt (2, 19). Als Bezugspunkt diente der nach der Biuretmethode bestimmte Proteingehalt der Lösungen.(12).

3. Bezugsquellen der benutzten Substrate und Reagentien

Isocitrat, Dilithiumacetylphosphat und Phenazinmethosulfat von SIGMA Chemical Company.
Aldosteron: Präparat ALDOCORTEN der CIBA AG.
Alle anderen Substrate und Enzyme: BOEHRINGER AG. Mannheim.

E r g e b n i s s e

Abbildung 1 zeigt ein Stoffwechselschema der Glykolyse, des Citronensäurecyclus und einiger Nebenreaktionen, in das die Enzyme, deren Aktivität wir gemessen haben, umrandet eingetragen sind. Und zwar : Condensing enzyme (CE), TPN-Isocitrat-Dehydrogenase (T-IDH), DPN-Isocitrat-Dehydrogenase (D-IDH), Succinat-Dehydrogenase (SDH), Malat-Dehydrogenase (MDH), Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Glutamat-Dehydrogenase (GluDH), β-Hydroxybutyrat-Dehydrogenase (HBDH) und α-Glycerophosphat-Oxydase (GPOX) (alle bestimmt in den aus der Gesamtniere isolierten Mitochondrien), Glyceraldehydphosphat-Dehydrogenase (GAPDH), Pyruvat-Kinase (PK), Laktat-Dehydrogenase (LDH) und malic enzyme (ME) (bestimmt im Homogenat der Gesamtniere) .

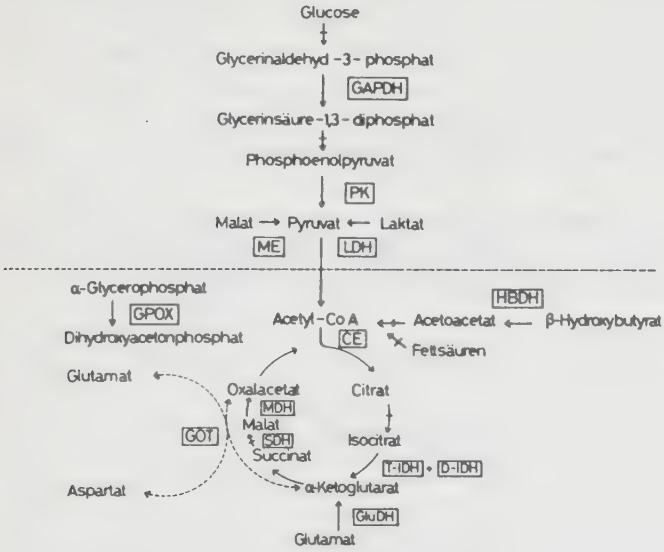

Abbildung 1 : Lokalisation der untersuchten Enzyme im Zellstoffwechsel. Obere Hälfte: im Homogenat der Gesamtniere bestimmt, untere Hälfte: in den Mitochondrien der Gesamtniere bestimmt. Die umrandeten Abkürzungen sind im Text erläutert. Pfeile mit Unterbrechung bedeuten gekürzte Reaktionsfolge.

A) Mitochondrien der Gesamtniere

1. Enzymaktivitäten nach Adrenalektomie

Wie Tabelle I zeigt, ist nach Adrenalektomie die Aktivität der Mehrzahl der untersuchtn Enzyme gegenüber der Kontrollgruppe unverändert. Verminderte Aktivität wurde bei dem condensing enzyme, der TPN-Isocitrat-Dehydrogenase, der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und der Glutamat-Dehydrogenase gefunden. Dabei zeigt das condensing enzyme die stärkste Abnahme der Aktivität.

2. Enzymaktivitäten nach Aldosteronverabreichung an adrenalektomierte Tiere

Von den vier Enzymen, die nach Adrenalektomie eine erniedrigte Aktivität zeigen, wird die Aktivität des condensing enzyme, der TPN-Isocitrat-Dehydrogenase und der Glutamat-Dehydrogenase 3 Stunden nach Gabe von 80 µg d-Aldosteron/ 100 g K.G. i.p. wieder normal gefunden, die Aktivität der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase zeigt eine leichte Zunahme,deren Höhe nicht zur Normalisierung ausreicht.

Aus der Gruppe von Enzymen, deren Aktivität nach Adrenalektomie unverändert bleibt, zeigt nur die Succinat-Dehydrogenase eine Zunahme der Aktivität, während die Aktivität der anderen Enzyme unverändert ist.

Tabelle I : Mitochondrien der Gesamtniere

	Normal	Adrenalektomie	Adrenalektomie + Aldosteron
CE	2.3 ± 0.1	1.3 ± 0.2**	2.5 ± 0.2**
n	10	10	10
T-IDH	2.6 ± 0.7	2.1 ± 0.5*	2.7 ± 0.3*
n	14	15	10
D-IDH	0.32 ± 0.03	0.33 ± 0.04	0.30 ± 0.07
n	8	10	10
SDH	9.7 ± 1.3	9.6 ± 0.9	10.6 ± 0.7*
n	7	9	8
MDH	47.5 ± 8.7	39.9 ± 8.1	46.6 ± 5.2
n	9	8	8
GOT	10.7 ± 2.4	8.2 ± 1.4*	8.8 ± 1.3
n	13	13	10
GluDH	6.2 ± 1.3	4.8 ± 1.0*	6.4 ± 0.9**
n	15	15	10
HBDH	0.18 ± 0.06	0.16 ± 0.02	-
n	7	5	
GP-OX	0.43 ± 0.03	0.39 ± 0.06	0.41 ± 0.05
n	7	9	8

Aktivität der Enzyme in µMol Substrat / sec x g Protein, angegeben sind die Mittelwerte mit der Standardabweichung. Erläuterung der Abkürzungen in Abbildung 1.

* = $p < 0{,}05$, ** = $p \ll 0{,}001$ (Student t-Test)

n = Zahl der Versuchstiere

B) Homogenat der Gesamtniere

1. Enzymaktivitäten nach Adrenalektomie

Wie Tabelle II zeigt, ist nach Adrenalektomie nur die Aktivität der Glyceraldehydphosphat-Dehydrogenase statistisch signifikant von der Kontrollgruppe verschieden.

2. Enzymaktivitäten nach Aldosteronverabreichung an adrenalektomierte Tiere

Bei der mit 80 µg d-Aldosteron behandelten Gruppe findet sich nur bei der Glyceraldehydphosphat-Dehydrogenase eine Zunahme der Aktivität, der Wert der Kontrollgruppe wird jedoch nicht erreicht. Wie aus Tabelle II ersichtlich, zeigen die anderen Enzyme keine statistisch signifikanten Veränderungen.

Tabelle II : Homogenat der Gesamtniere

	Normal	Adrenalektomie	Adrenalektomie + Aldosteron
GAPDH	9.9 ± 0.49	8.2 ± 0.53 *	9.0 ± 0.41 *
n	4	6	8
PK	2.0 ± 1.2	2.8 ± 0.8	1.6 ± 0.1
n	5	5	4
LDH	13.8 ± 2.6	14.9 ± 2.4	12.6 ± 1.0
n	6	5	4
ME	0.15 ± 0.02	0.15 ± 0.013	0.138 ± 0.024
n	5	7	4

Aktivität der Enzyme in µMol Substrat/ sec x g Protein, angegeben sind die Mittelwerte mit der Standardabweichung. Erläuterung der Abkürzungen in Abb. 1. * = $p < 0{,}05$ (Student t-Test), n = Zahl der Versuchstiere.

D i s k u s s i o n

In den vorliegenden Untersuchungen wurde gezeigt, daß Adrenalektomie eine Abnahme der Aktivität des condensing enzyme, der TPN-Isocitrat-Dehydrogenase, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und der Glutamat-Dehydrogenase bewirkt. Gabe von Aldosteron normalisiert bei adrenalektomierten Tieren nur die Aktivität des condensing enzyme, der TPN-Isocitrat-Dehydrogenase und der Glutamat-Dehydrogenase, die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase zeigt keine Beeinflussung durch Aldosteron, wir können deshalb dieses Enzym bei der folgenden Besprechung außer Acht lassen.

Es ergibt sich nun die Frage, ob diese an der Rattenniere erhobenen Befunde mit den erwähnten Substrat- und Inhibitorversuchen von LEAF et al. und EDELMAN et al. an der Krötenblase in Einklang zu bringen sind. Zur Erläuterung soll ein Stoffwechselschema dienen (Abb. 2), in dem eine Synopsis der Versuche mit Substraten und Inhibitoren an der Krötenblase und der Enzymaktivitätsmessungen an der Rattenniere versucht wird. Dabei ist der von EDELMAN vermutete Angriffsort des Aldosterons im Citronensäurecyclus, die Reaktionsfolge zwischen condensing enzyme und α-Ketoglutarat-Dehydrogenase durch breite Pfeile hervorgehoben. Aus der Abbildung ist die Übereinstimmung unserer Enzymaktivitätsmessungen mit der Hypothese von EDELMAN offenkundig. Sowohl das condensing enzyme als auch die TPN-Isocitrat-Dehydrogenase liegen in dem von EDELMAN abgegrenzten Teil des Citronensäurecyclus. Auch die fehlenden Veränderungen der übrigen untersuchten Enzyme des Citronensäurecyclus, der Succinat-Dehydrogenase und der Malat-Dehydrogenase, stimmen gut mit den Befunden von EDELMAN und FANESTIL überein. Letzterer konnte zeigen, daß Malonat, ein Hemmstoff der Succinat-Dehydrogenase (in Abb. 2 mit 2 bezeichnet), die Steigerung des Natriumtransportes der steroidbehandelten substratverarmten Krötenblase nach Gabe von Pyruvat nicht verhindern kann (8). Dadurch wurde eine Wirkung von Aldosteron auf die Succinat-Dehydrogenase und die Malat-Dehydrogenase unwahrscheinlich gemacht.

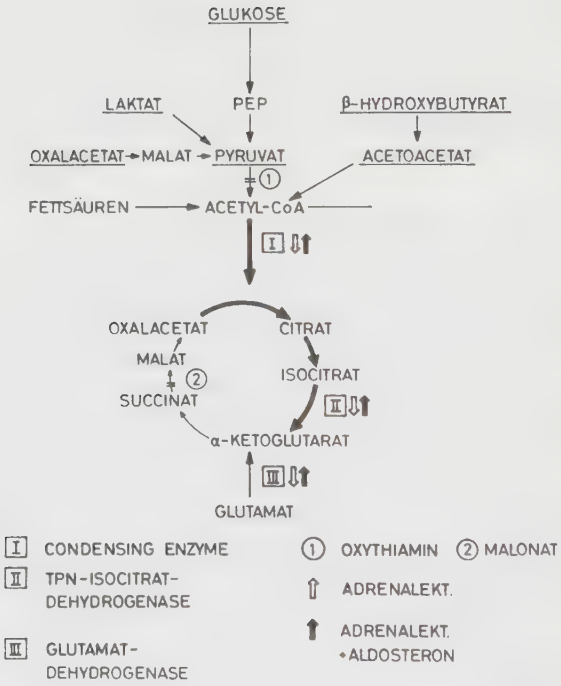

Abbildung 2 : Verkürztes Schema der Glykolyse und des Citronensäurecyclus. Der von EDELMAN vermutete Angriffsort des Aldosterons ist durch breite Pfeile hervorgehoben. Die unterstrichenen Substanzen bewirken an der steroidbehandelten substratverarmten Krötenblase eine Steigerung des Natriumtransportes. Von einem Kreis umschlossene arabische Zahlen weisen auf den Angriffspunkt von Inhibitoren hin :
1 = bei Anwesenheit von Oxythiamin bewirken nur Acetoacetat und β-Hydroxybutyrat eine Steigerung des Natriumtransportes.
2 = bei Anwesenheit von Malonat wird der natriumtransportsteigernde Effekt von Pyruvat nicht verhindert.
Die umrandeten römischen Ziffern stellen Enzyme dar, die in unseren Untersuchungen eine Beeinflussung durch Aldosteron zeigen.

Die glykolytischen Enzyme Glyceraldehydphosphat-Dehydrogenase, Pyruvat-Kinase und Laktat-Dehydrogenase und das andere untersuchte cytoplasmatische Enzym, das malic enzyme, zeigen keine oder nur geringe Änderungen ihrer Aktivität durch Aldosteron. Dieses Ergebnis steht mit den Untersuchungen über die Wirkung von Oxythiamin, einem Hemmstoff der Pyruvat-Dehydrogenase, an der Krötenblase in Übereinstimmung. Oxythiamin (in Abb. 2 mit 1 bezeichnet) hemmt die Steigerung des Natriumtransportes der steroidbehandelten substratverarmten Krötenblase nur, wenn Glukose, Pyruvat, Laktat oder Oxalacetat als Substrat dienen, Acetoacetat und β-Hydroxybutyrat, die auf einem anderen Weg in Acetyl-CoA umgewandelt werden, heben diese Hemmung auf. Diese Befunde weisen darauf hin, daß für die durch Aldosteron bewirkte Steigerung des Natriumtransportes das Angebot an Acetyl-CoA entscheidend ist, und daß Glukose, Pyruvat, Laktat und Oxalacetat nur indirekt durch Umwandlung in Acetyl-CoA den Natriumtransport beeinflussen. Daher war zu erwarten, daß Aldosteron die Aktivität von Enzymen der Glykolyse und ihrer Nebenreaktionen nicht verändert, was durch obige Enzymbefunde bestätigt wurde. Die von uns beobachtete Wirkung von Aldosteron auf die Glutamat-Dehydrogenase scheint ein für die Rattenniere spezifischer Effekt zu sein, der wahrscheinlich mit der Aldosteronwirkung auf den Natriumtransport nichts zu tun hat. α-Ketoglutarat, als Endprodukt dieser Reaktion erhöht nämlich an der steroidbehandelten substratverarmten Krötenblase den Natriumtransport nicht (11).

Weiter stellt sich die Frage, ob die Steigerung der Enzymaktivitäten durch Aldosteron der Erhöhung des Natriumtransportes durch dieses Hormon parallel geht. Hierzu können die Untersuchungen von HIERHOLZER und Mitarbeitern herangezogen werden, daß bei der adrenalektomierten Ratte eine Normalisierung des Natriumtransportes 60 min nach Gabe von 0,125 µg Aldosteron / 100 g i.v. und gleichzeitiger Gabe von 7,5 µg Aldosteron / 100 g i.m. eintritt (26), Die Enzymaktivitäten wurden von uns drei Stunden nach Gabe von 80 µg Aldosteron / 100 g i.p. untersucht. Die Versuchsanordnungen differieren also in der

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1) BERGMEYER, H.U. und H.MOELLERING: "Enzymatische Bestimmung von Acetat."
Biochemische Zeitschrift 344, 167-189 (1966)

2) BERNATH, P. und P.SINGER: "Succinic Dehydrogense."
In: Methods in Enzymology. Ed. by P.Colowick and N.O.Kaplan, Vol V, p. 601-602
New York: Academic Press 1965

3) BUCKEL, W. und H.EGGERER: "Zur optischen Bestimmung von Citrat-Synthase und von Acetyl-CoA."
Biochemische Zeitschrift 343, 29-43 (1965)

4) BÜCHER, Th., W.LUH und D.PETTE: "Einfache und zusammengesetzte optische Tests mit Pyridinnucleotiden."
In: Hoppe-Seyler/Thierfelder
Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. B. VI/T.A, S. 292-339
Berlin: Springer-Verlag 10.Aufl. 1964

5) CHIGNELL, F. and E.TITUS: "Effect of Adrenalsteroids on a Na^+- and K^+- requiring adenosine triphosphatase from rat kidney."
J.biolog.Chem. 241, 5038-5089 (1966)

6) CRABBE, J.: "Stimulation of active sodium transport by isolated toad bladder with aldosterone in vitro."
J.clin.Invest. 40, 2103-2110 (1961)

7) CRABBE, J.: "Stimulation of active sodium transport across the isolated toad bladder after injektion of aldosterone to the animal."

8) EDELMAN, I.S.: "Action of Aldosteron on Sodium Transport."
III. Internat.Cong.Nephrolog.
Washington 1966 p. 67 (preprint)

9) EDELMAN, I.S.; R.BOGOROCH and G.A.PORTER: " On the mechanism of action of aldosterone on sodium transport: the role of protein synthesis."
Proc.Nat.Acad.Sci.U.S. 50, 1169-1177 (1963)

10) FIMOGNARI, G., D.K.KASBEKAR and I.S.EDELMAN: "Role of pyruvate metabolism in the action of aldosterone on Na^+-transport."
Fed.Proc. 24, 344 (1965)

11) FIMOGNARI, G.,G.A.PORTER and I.S.EDELMAN: " The role of the tricarboxylic acid cycle in the action of aldosterone on sodium transport."
Biochim.Biophys.Acta 135, 89-99 (1967)

12) GORNELL, A.G., Ch.J.BARDAWILL and M.M.DAVID: "Determination of serum protein by means of the biuret reaction."
J.biol.Chem. 177, 751-766 (1949)

13) HIERHOLZER, K., M.WIEDERHOLT und H.STOLTE: "Hemmung der Natrium-resorption im proximalen und distalen Konvolut adrenalektomierter Ratten."
Pflügers Arch.ges.Physiol. 291, 43-62 (1966)

14) HIDALGO, C. and M.CANESSA-FISCHER: "Sodium transport inhibition by selective mitochondrial inhibitors in urinary bladder of the toad."
J.cell.comp.Physiol. 68, 185 (1966)

15) HOKIN, M.R.: "Respiration and ATP and ADP levels during Na^+-transport in salt gland slices."
Life Sci. 5, 1829-1837 (1966)

16) KADENBACH, B.: "Der Einfluss von Thyreoidhormonen in vivo auf die oxydative Phosphorylierung und Enzymaktivitäten in Mitochondrien."
Diss. Marburg/Lahn (1964)

17) LOSERT, W., R.SITT, G.SENFT, K.v.BERGMANN und G.SCHULTZ: "Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von Aldosteron."
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak., 257, 309-311 (1967)

18) PORTER, G.A., R.BOGOROCH and I.S.EDELMAN: "On the mechanism of action of aldosterone on sodium transport: the role of RNA synthesis."
Proc.Nat.Acad.Sci.U.S. 52, 1326-1333 (1964)

19) RINGLER, L.R. and T.P.SINGER: "α-L-Glycerophosphate Dehydrogenase from pig brain."
In: Methods in Enzymology. Ed. by P.Colowick and N.O.Kaplan, Vol. V, p. 432-434
New York: Academic Press 1965

20) ROSSUM, G.D.V.v.: "Measurements of respiratory pigments and sodium efflux in slices of avian salt-gland."
Biochem.Biophys.Res.Comm. 15, 540 (1964)

21) ROSSUM, G.D,V.v.: "Observation on the fluorescence emitted by slices of rat liver and avian salt-gland."
Biochim.Biophys.Acta 88, 507-516 (1964)

22) SHARP, G.W.G. and A.LEAF: "The central role of pyruvate in the stimulation of sodium transport by aldosterone."
Proc.Nat.Acad.Sci.U.S. 52, 1114-1121 (1964)

23) SHARP, G.W.G. and A.LEAF: "Metabolic requirements for active sodium transport stimulated by aldosterone."
J.biol.Chem. 240, 4816-4821 (1965)

24) SHARP, G.W.G. and A.LEAF: "Mechanism of action of aldosterone."
Physiol.Rev. 46, 593 (1966)

25) SHARP, G.W.G., N.S.LICHTENSTEIN and A.LEAF: "Acetyl-CoA requirement for the stimulation of sodium transport by aldosterone."
Biochim.Biophys.Acta 111, 329-331 (1965)

26) WIEDERHOLT, M.,H.STOLTE, J.P.BRECHT und K.HIERHOLZER: "Mikropunktionsuntersuchungen über den Einfluß von Aldosteron, Cortison und Dexamethason auf die renale Natriumresorption adrenalektomierter Ratten."
Pflügers Arch.ges.Physiol. 292, 316-333 (1966)

Z u s a m m e n f a s s u n g

In der Niere normaler und adrenalektomierter Ratten wurde die Aktivität des condensing enzyme, der TPN-Isocitrat-Dehydrogenase, DPN-Ispcitrat-Dehydrogenase, Succinat-Dehydrogenase, Malat-Dehydrogenase, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, Glutamat-Dehydrogenase, β-Hydroxybutyrat-Dehydrogenase, α-Glycerophosphat-Oxydase, Glyceraldehydphosphat-Dehydrogenase, Laktat-Dehydrogenase, Pyruvat-Kinase und des malic enzyme bestimmt.

Adrenalektomie bewirkt eine Abnahme der Aktivität des condensing enzyme um 44 %, der TPN-Isocitrat-Dehydrogenase um 20 %, der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase um 23 %, der Glutamat-Dehydrogenase um 23 % und der Glyceraldehydphosphat-Dehydrogenase um 17 %.

Gabe von Aldosteron bei adrenalektomierten Tieren normalisiert die Aktivität des condensing enzyme, der TPN-Isocitrat-Dehydrogenase und der Glutamat-Dehydrogenase, die Aktivität der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und der Glyceraldehydphosphat-Dehydrogenase zeigt eine leichte nicht zur Normalisierung ausreichende Steigerung.

Diese Befunde bestätigen die Vermutung von EDELMAN, daß Aldosteron die Aktivität von Enzymen steigert, die im Anfangsteil des Citronensäurecyclus zwischem condensing enzyme und der α-Ketoglutarat-Dehydrogenase liegen.

Herrn Professor Dr. U l l r i c h danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und Herrn Dr. Kirsten für die fachliche Beratung bei der Arbeit.

L e b e n s l a u f

Am 27.September 1941 wurde ich, Rolf Kinne, als Sohn des derzeitigen Regierungsrates Karl-Heinz Kinne und seiner Ehefrau Luise Kinne geb. Pätschke in Berlin geboren.

Von 1947 bis 1951 ging ich in Berlin-Tempelhof zur Grundschule. Bis zur Reifeprüfung im Frühjahr 1960 besuchte ich eine Oberschule Wissenschaftlichen Zweiges in Berlin-Tempelhof.

Am 1.6.1960 wurde ich an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin immatrikuliert. Nach dem Sommersemester 1962 bestand ich die ärztliche Vorprüfung und im Frühjahr 1966 die ärztliche Prüfung in Berlin.

Vom Mai 1966 bis zum April 1967 war ich als Medizinalassistent am Physiologischen Institut der Freien Universität Berlin tätig. Seit Mai 1967 arbeite ich als wissenschaftlicher Assistent am gleichen Institut bei Herrn Professor Ullrich.

Fred Höpfner · Dissertationsdruck · 1 Berlin 12 · Pestalozzistr. 105 · Tel. 318885